

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan *Impatiens balsamina* L.

Impatiens balsamina Linn, tanaman yang biasanya banyak tumbuh dipekarangan rumah sebagai tanaman hias. Tanaman ini dapat dipelihara dengan mudah, serta dapat dikembangkan dengan cara menebar biji dari buah tanaman pacar air tersebut. Memiliki bunga dengan beragam warna yang bervariasi sehingga jika pacar air yang berbeda warna disilangkan, maka akan terbentuk keturunan yang beranekaragam. Tergolong tanaman yang mampu hidup hingga dua tahunan dengan tinggi dapat mencapai 30-80 cm. Bagian tanaman yang sering dilakukan ekstraksi adalah bunga, daun, dan batang dimana masing-masing dari bagian tanaman dapat dimanfaatkan sebagai obat alternatif. (Dalimartha, 2014).

2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Berdasarkan ilmu taksonomi, klasifikasi *I. balsamina* L. adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas : Rosidae
Ordo : Geraniales
Famili : Balsaminaceae
Genus : *Impatiens*
Spesies : *Impatiens balsamina* Linn
(Wijayakusuma, 1999)



Gambar 2.1 Tanaman *Impatiens balsamina* L. (Dokumen pribadi)

2.1.2 Sinonim

Tanaman pacar air memiliki beberapa sinonim diantaranya adalah *Impatiens cornuta* Linn, *Impatiens hortensis* Desf, *Impatiens mutila* D.C., *Balsamina mutila* DC (Dalimartha, 2003).

2.1.3 Nama Daerah

Dibeberapa daerah di Indonesia *I. balsamina* dikenal dengan nama sebagai berikut:

Sumatra	: lahine (Nias), paruinal (Minangkabau), bunga tabo, inay ayer, pacar ayer, laka kecil (Melayu).
Jawa	: kimhong (Jakarta), pacar cai (Sunda), pacar banyu (Jawa).
Nusa Tenggara	: pacar foya (Bali), pacar aik (Sasak).
Sulawesi	: tilanggele duluku, kolondingi unggangu (Gorontalo).
Maluku	: bunga jabelu (Halmahera selatan), giabebe dumul (Halmahera Utara), laka gofu (Ternate, Tidore).

(Wijayakusuma, 2000)

2.1.4 Morfologi

I. balsamina, herba berbatang basah, warna hijau kekuningan yang tingginya dapat mencapai 30-80 cm, dan bercabang-cabang. Berdasarkan arah tumbuhnya, batang utama tumbuhan ini tegak lurus yaitu arah tumbuh batang utama beserta percabangannya tegak lurus ke atas. Percabangan dari tanaman ini adalah monopodial yaitu batang utama selalu tampak jelas, karena lebih besar dan lebih panjang dari cabang-cabangnya (Hidayat dan Napitupulu, 2015).

Duduk daun spiral, daun tunggal berbentuk lanset memanjang dengan ukuran panjang 2,5-9 cm dan lebar 1-2,5 cm, tepi bergerigi, ujung meruncing, pertulangan menyirip, bertangkai pendek, serta warna daun hijau muda dan tidak mempunyai daun penumpu (Hidayat dan Napitupulu, 2015).

Bunga berwarna cerah dan bervariasi seperti merah, merah muda, jingga, ungu, dan putih. Bunga keluar dari ketiak daun tanpa daun penumpu. Bunga terkumpul 1-3, daun kelopak berbentuk corong miring, daun mahkota berjumlah lima. Daun mahkota samping berbentuk jantung terbalik dengan panjang 2-2,5 cm, 2 bagian bersatu dengan kuku, yang lain lepas tidak berkuku dan lebih pendek. Ada 5 benangsari dengan tangkai sari yang pendek, lepas, agak bersatu. Kepala sarinya bersatu membentuk tudung putih. Setiap tangkai hanya berbunga 1 dan tangkainya tidak beruas dan memiliki 5 kepala putik (Wijayakusuma, 2000; Tjitrosoepomo, 1993).

Buahnya adalah buah kendaga, bentuk buah *ellips* bila masak akan membuka menjadi lima bagian yang terpilin (Hidayat dan Napitupulu, 2015). Biji tanaman pacar air berbentuk bulat, kecil, dan berwarna coklat kehitaman. Tanaman ini memiliki jenis akar serabut (Dalimartha, 2003).

2.1.5 Habitat dan Distribusi Geografis

Tanaman *I. balsamina* berasal dari Asia Selatan (India) dan Asia Tenggara, namun telah diperkenalkan di Amerika Serikat pada abad 19. Di Indonesia, tanaman ini tersebar merata dan banyak dijumpai sebagai tanaman hias di pekarangan rumah dan di taman-taman, terkadang ditemukan tumbuh liar. Tanaman ini dapat ditemukan dari dataran rendah sampai ketinggian 1000 m dari permukaan laut. Serta dapat hidup pada daerah beriklim semi tropical, namun tidak dapat hidup pada daerah yang kering dan gersang (Steenis et al, 2008).

2.1.6 Khasiat *Impatiens balsamina* Linn

Tanaman *I. balsamina* memiliki banyak khasiat diantaranya sebagai *antifungal*, *antibacterial*, *antitumor*, *antipruritic*, *antianaphylactic* (Oku dan Ishiguro, 2001). Efek farmakologis dari biji *I. balsamina* sebagai peluruh haid (*emenagog*), terlambat datang haid (*amenorrhea*), mempermudah persalinan (*parturifasien*), mengobati kanker saluran pencernaan bagian atas. Efek farmakologis Bunga sebagai peluruh haid (*emenagog*), tekanan darah tinggi (hipertensi), pembengkakan akibat terpukul (hematoma), bisul (*furunculosis*), rematik sendi, gigitan ulat tidak berbisa, radang kulit (*dermatitis*). Akar dapat digunakan sebagai peluruh haid (*emenagog*), antiradang (*antiinflamasi*), rematik, kaku leher, sakit pinggang (*lumbago*). Bagian daun terdapat efek farmakologis untuk mengatasi keputihan (*leucorrhoea*), nyeri haid (*dysmenorrhoea*), radang usus buntu kronis (*cronic appendicitis*), antiradang (*antiinflamasi*), tulang patah atau retak (*fraktur*), mengurangi rasa nyeri (*analgesik*), bisul (*furunculus*), radang kulit (*dermatitis*), dan radang kuku (Wijayakusuma, 2000).

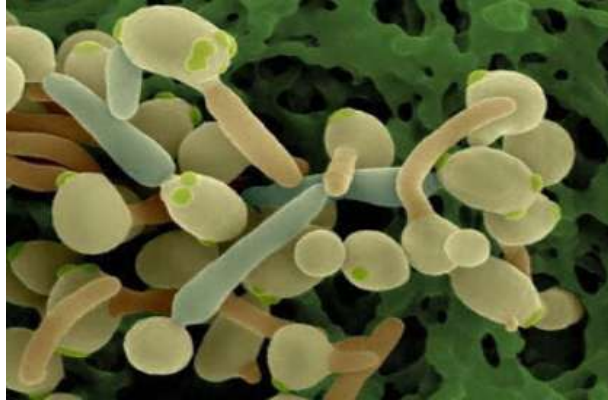
2.1.7 Kandungan Senyawa

Banyak manfaat ditemukan dari bunga pacar air, hal itu berhubungan dengan adanya kandungan senyawa kimia yang terdapat pada tanaman tersebut diantaranya bunga mengandung antosianin, sianidin, delphinidin, pelargonidin, malvidin, kuersetin dan bagian akar mengandung sianidin monoglikosida (Dalimartha, 2003). Menurut Hariana (2005) kandungan kimia pada tanaman *I. balsamina* yaitu saponin, quercetrin, minyak lemak, balsaminasterol, dan beta-sitosterol. Penelitian Adfa (2008) menemukan metabolit sekunder dari daun pacar air yang mengandung kumarin, flavonoid, kuinon, saponin, dan steroid.

2.2 Tinjauan Umum *Candida albicans*

Candida albicans adalah ragi berbentuk lonjong, bertunas dapat menghasilkan *pseudomysellium* baik dalam biakan maupun dalam jaringan dan eksudat. Ragi ini merupakan anggota flora normal selaput mukosa yang terdapat pada saluran pernapasan, saluran pencernaan, dan genitalia wanita. Dominan dan dapat menyebabkan keadaan-keadaan patologik pada tempat-tempat tersebut. Terkadang *Candida* menyebabkan penyakit sistemik progresif pada penderita yang lemah atau sistem imunnya tertekan, terutama jika imunitas terganggu.

Candida dapat menimbulkan invasi dalam aliran darah, *tromboflebitis*, *endokarditis*, atau infeksi pada mata dan organ-organ lain bila dimasukkan secara intravena dalam tubuh (Jawetz *et al.* 2005)



Gambar 2.2 *Candida albicans* (Mainous, 2010)

2.2.1 Taksonomi

Kingdom : Fungi
 Phylum : Ascomycota
 Subphylum : Saccharomycotina
 Class : Saccharomycetes
 Ordo : Saccharomycetales
 Family : Saccharomycetaceae
 Genus : *Candida*
 Spesies : *Candida albicans* (C.P. Robin) Berkhout 1923
 Sinonim : *Candida stellatoidea* dan *Oidium albicans*
 (Jones *et al.* 2004)

2.2.2 Morfologi dan Karakteristik

Candida tumbuh sebagai sel tunas pada biakan maupun jaringan , berbentuk oval berukuran 3-6 μ m. Ketika tunas terus tumbuh tetapi gagal melepaskan diri *Candida* membentuk pseudohifa, menghasilkan rantai sel yang memanjang. *C. albicans* bersifat dimorfik, selain ragi dan pseudohifa, *Candida* juga dapat menghasilkan hifa sejati.

C. albicans tergolong jenis jamur dimorfik karena memiliki kemampuan untuk tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai sel tunas yang akan berkembang menjadi blastospora dan membentuk hifa semu dari hasil

terbentuknya kecambah. Faktor eksternal yang mempengaruhi dapat menyebabkan perbedaan bentuk. Blastospora berbentuk bulat, lonjong atau bulat lonjong dengan ukuran $2-5\mu \times 3-6\mu$ hingga $2-5,5\mu \times 5-28\mu$ (Jawetz *et al.* 2009).

Memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang hingga membentuk hifa semu, terbentuk dengan banyak kelompok blastospora berbentuk bulat atau lonjong di sekitar septum. Blastospora berukuran besar, berbentuk bulat atau seperti botol, dalam jumlah sedikit. Dinding sel *C. albicans* berfungsi sebagai pelindung dan juga sebagai target dari beberapa antimikotik serta berperan lain dalam proses penempelan dan kolonisasi dengan sifat antigenik. Fungsi utama dinding sel tersebut adalah memberi bentuk pada sel dan melindungi sel dari lingkungannya. Struktur dinding sel pada *C. albicans* berbentuk kompleks dengan tebal 100 sampai 400 nm. Sel ini dapat berkembang menjadi klamidospora yang berdinding tebal dan bergaris tengah sekitar 8-12 μ . (Hasanah, 2012; Hendrawati, 2008).

Morfologi koloni *C. albicans* pada medium padat *Sabourea Dextrose Agar* (SDA) umumnya berbentuk bulat dengan permukaan sedikit cembung, halus, licin dan kadang-kadang sedikit berlipat-lipat terutama pada koloni yang telah tua. Besar kecilnya koloni dipengaruhi oleh umur biakan. Warna koloni putih kekuningan dan berbau asam seperti aroma tape. Dalam medium cair seperti *glucose yeast, extract pepton*, *C. albicans* tumbuh di dasar tabung. Pada variasi pH yang luas *C. albicans* dapat tumbuh, tetapi pertumbuhannya akan lebih baik pada pH antara 4,5-6,5. Jamur ini dapat tumbuh dalam perbenihan pada suhu $28^{\circ}\text{C} - 37^{\circ}\text{C}$ (Tauryska, 2011).

2.2.3 Patogenitas

Pada manusia *C. albicans* sering ditemukan dan menginfeksi bagian tubuh seperti dalam mulut, kulit, di bawah kuku, genitalia wanita bahkan dapat ditemukan pada feses orang sehat. *C. albicans* dapat membentuk blastospora dan hifa, baik dalam biakan maupun dalam tubuh. Bentuk jamur di dalam tubuh dianggap dapat dihubungkan dengan sifat jamur, yaitu sebagai saproba tanpa menyebabkan kelainan atau sebagai parasit patogen yang menyebabkan kelainan dalam jaringan (Jawetz *et al.*, 2005). Menempelnya mikroorganisme dalam jaringan sel host menjadi awal berkembangnya infeksi. Setelah terjadi proses

penempelan, *C. albicans* berpenetrasi ke dalam sel epitel mukosa. *C. albicans* berada dalam tubuh manusia sebagai saproma dan infeksi baru terjadi bila terdapat faktor predisposisi pada tubuh. Faktor yang dihubungkan dengan meningkatnya kasus kandidiasis antara lain disebabkan oleh kondisi imunitas tubuh yang menurun atau kondisi buruk misalnya pada bayi baru lahir, orang tua renta, orang dengan gizi rendah. Penyakit tertentu, misalnya diabetes mellitus, kehamilan. Rangsangan setempat pada kulit oleh cairan yang terjadi terus-menerus, misalnya oleh air, keringat, urin, atau air liur. Penggunaan obat, diantaranya: antibiotik, kortikosteroid, dan sitostatik (Simatupang, 2009; Tjampakasari, 2005). Faktor predisposisi berperan dalam meningkatkan pertumbuhan *C. albicans* serta memudahkan invasi jamur ke dalam jaringan tubuh manusia karena adanya perubahan dalam sistem pertahanan tubuh. Blastospora berkembang menjadi hifa semu dan tekanan dari hifa semu tersebut merusak jaringan, sehingga invasi ke dalam jaringan dapat terjadi. Virulensi ditentukan oleh kemampuan jamur merusak jaringan. Enzim-enzim yang berperan sebagai factor virulensi adalah enzim-enzim hidrolitik seperti proteinase, lipase, dan fosfolipase (Simatupang, 2009; Tjampakasari, 2005).

2.2.4 Manifestasi Klinik

Faktor-faktor predisposisi utama infeksi *C. albicans* adalah : diabetes mellitus, imunodefisiensi, kateter intra vena atau kateter air kemih yang terpasang terus-menerus, penyalahgunaan narkotika intravena, pemberian antimikroba (yang mengubah flora bakteri normal), dan kortikosteroid.

- A. **Mulut** : Infeksi mulut seperti sariawan, terutama pada bayi, terjadi pada selaput mukosa pipi dan tampak sebagai bercak-bercak putih yang sebagian besar terdiri atas pseudomiselium dan epitel yang terkelupas, dan hanya terdapat erosi minimal pada selaput. Pertumbuhan Candida di dalam mulut akan lebih subur bila disertai kortikostroid, antibiotika, kadar glukosa tinggi, dan imunodefisiensi (Jawetz *et al*, 2005).
- B. **Genitalia wanita** : Vulvovaginitis menyerupai sariawan tetapi menimbulkan iritasi, gatal yang hebat, dan pengeluaran sekret. Hilangnya pH asam merupakan predisposisi timbulnya vulvovaginitis kandida. Dalam keadaan normal pH yang asam dipertahankan oleh bakteri vagina. Diabetes,

kehamilan, progesteron, atau pengobatan antibiotika predisposisi penyakit ini (Jawetz *et al*, 2005).

- C. **Kulit** : Infeksi kulit terutama terjadi pada bagian-bagian tubuh yang basah, hangat, seperti ketiak, lipat paha, skrotum, atau lipatan-lipatan di bawah payudara. Infeksi paling sering terdapat pada orang gemuk dan diabetes. Daerah-daerah itu menjadi merah dan mengeluarkan cairan dan dapat membentuk vesikel. Infeksi *Candida* pada kulit antara jari-jari tangan paling sering terjadi bila tangan direndam cukup lama dalam air secara berulang kali (Jawetz *et al*, 2005).
- D. **Kuku** : Rasa nyeri, bengkak kemerahan pada lipat kuku, yang menyerupai paronikia piogenik dapat mengakibatkan penebalan dan alur transversal pada kuku dan akhirnya kuku tanggal (Jawetz *et al*, 2005).
- E. **Paru-paru dan Organ Lain** : Infeksi *Candida* dapat menyebabkan invasi sekunder pada paru-paru, ginjal, dan organ lain yang sebelumnya telah menderita penyakit lain (misalnya tuberkulosis atau kanker). Pada leukimia yang tidak terkontrol dan pada penderita sistem imunnya terganggu atau menjalani pembedahan, lesi oleh *Candida* dapat terjadi pada banyak organ. Endokarditis terutama terjadi pada pecandu narkoba atau orang dengan katup prostetik. Kadang-kadang timbul kandiduria setelah kateterisasi air kemih, tetapi ini cenderung sembuh secara spontan (Jawetz *et al*, 2005).
- F. **Kandidiasis Mukokutan Menahun** : Kelainan ini merupakan tanda defisiensi imunitas seluler pada anak-anak (Jawetz *et al*, 2005).
- G. **Saluran pencernaan** : Stomatitis dapat terjadi bila jamur menginfeksi rongga mulut. Gambaran klinisnya khas berupa bercak-bercak putih kekuningan, yang timbul pada dasar selaput lendir yang merah. Hampir seluruh selaput lendir mulut, termasuk lidah terkena. Gejala yang ditimbulkannya adalah rasa nyeri, terutama bila tersentuh makanan (Jawetz *et al*, 2005).

2.2.5 Aktivitas Antikandida

C. albicans menyebabkan infeksi kandidiasis meliputi kandidemia, meningitis, dan endoftalmitis (Pappas, 2006). Menurut Siswandono dan Soekardjo (2000), mekanisme kerja antikandida adalah sebagai berikut:

1) Gangguan pada membran sel

Gangguan ini terjadi karena adanya ergosterol dalam sel jamur. Ergosterol merupakan komponen sterol yang sangat penting dan sangat mudah diserang oleh antibiotik turunan polien. Kompleks polien-ergosterol yang terjadi dapat membentuk suatu pori dan melalui pori tersebut konstituen esensial sel jamur seperti ion K, fosfat anorganik, asam karboksilat, asam amino dan ester fosfat bocor keluar hingga menyebabkan kematian sel jamur. Contoh: nistatin, amfoterisin B dan kandisidin.

2) Penghambatan biosintesis ergosterol dalam sel jamur

Mekanisme ini disebabkan oleh senyawa turunan imidazol yang mampu menimbulkan ketidakaturan membran sitoplasma jamur dengan cara mengubah permeabilitas membran dan mengubah fungsi membran dalam proses senyawa-senyawa esensial yang dapat menyebabkan ketidakseimbangan metabolik sehingga menghambat biosintesis ergosterol dalam sel jamur. Contoh: ketokonazol, klortimazol, mikonazol, bifonazol.

3) Penghambatan sintesis protein jamur

Mekanisme ini disebabkan oleh senyawa turunan pirimidin. Efek antijamur terjadi karena senyawa turunan pirimidin mampu mengalami metabolisme dalam sel jamur menjadi suatu metabolit.

4) Penghambatan mitosis jamur

Efek antijamur ini terjadi karena adanya senyawa antibiotik griseofulvin yang mampu mengikat protein mikrotubuli dalam sel dan mengganggu fungsi mitosis gelendong, menimbulkan penghambatan pertumbuhan.

2.2.6 Pengobatan Kandidiasis dan Efek Samping

Antimikotika yang digunakan untuk mengobati infeksi jamur dapat digolongkan sebagai berikut :

1) Golongan Polien

a) Amfoterisin B

Amfoterisin B berikatan kuat dengan sterol yang terdapat pada membran sel jamur. Ikatan ini akan menyebabkan membran sel bocor, sehingga terjadi kehilangan beberapa bahan intrasel dan mengakibatkan kerusakan yang tetap pada sel (Ganiswara,1995). Amfoterisin B diisolasi dari *Streptomyces nodosus*, efektif hampir semua mikosis sistemik, termasuk kutan dan mukokutan kandidiasis. Amfoterisin juga efektif terhadap mukokutan leishmaniasis, tetapi kurang efektif terhadap bakteri, protozoa, dan virus. Absorpsi obat dalam saluran cerna rendah, sehingga lebih banyak diberikan secara infus intravena.

Ikatan obat dengan protein plasma sangat kuat dan mempunyai waktu paro selama ± 24 jam. Dosis infus I.V : 255 μ g/kg bb dalam 500 ml larutan dekstrosa 5% dalam jangka waktu 6 jam (Siswandono dan Soekardjo, 2008). Efek samping sangat sering terjadi dan sebagian pasien mengalami demam, menggigil, dan mual. Terapi jangka panjang dapat menyebabkan kerusakan ginjal yang hampir tidak dapat dielakkan, yang reversibel hanya jika dideteksi sejak dini (Neal, 2006).

b) Nistatin

Nistatin (Candistatin, Mycostatin), diisolasi dari *Streptomyces noursei*, digunakan untuk pengobatan infeksi *Candida* sp. pada kulit, membran mukosa, saluran cerna dan vagina. Nistatin juga digunakan secara oral atau setempat, untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh *Candida* sp. dan *Aspergillus* sp. Dosis oral tablet : 0,5-1 juta UI 3 dd, suspensi : 0,4-0,6 juta UI 4 dd, vaginal : 0,1-0,2 juta UI/hari, selama 2 minggu, setempat : krim atau salep 0,1 juta unit/g 2-3 dd (Siswandono dan Soekardjo, 2008).

Nistatin hanya akan diikat oleh jamur atau ragi yang sensitif. Aktivitas antijamur tergantung dari adanya ikatan dengan sterol pada membran sel jamur atau ragi terutama sekali ergosterol (Ganiswara,1995). Nistatin terutama digunakan untuk infeksi *Candida* di kulit, selaput lendir dan saluran cerna. Obat ini tidak efektif untuk kandidiasis pada kuku dan kulit yang mengalami

hiperkeratinisasi atau berkrusta (Ganiswara,1995). Efek samping pada penggunaan oral mual dan muntah selewat (Tjay dan Rahardja, 2007).

2) Derivat Imidazol

a) Ketokonazol

Ketokonazol digunakan secara oral untuk pengobatan mikosis sistemik dan mukokutan. Obat ini kurang efektif terhadap aspergilosis dan sporotrichosis. Ketokonazol juga aktif pada penggunaan setempat untuk pengobatan dermatomikosis, infeksi tinea dan kandidiasis kutan. Efek samping yang ditimbulkan antara lain mual dan kemungkinan menyebabkan hepatotoksik. Resiko efek samping dapat lebih besar jika diberikan lebih dari 14 hari. Dosis oral : 200 mg 1-2 dd, sebelum makan. Dosis setempat : larutan atau krim 2% 2 dd 2-4 minggu (Siswandono dan Soekardjo, 2008).

b) Mikonazol

Mikonazol berkhasiat fungisida kuat dengan spektrum kerja lebar, lebih aktif terhadap *Candida*, dan kurang berkhasiat untuk *Aspergillus*. Efek sampingnya dapat berupa iritasi, reaksi alergi dan rasa terbakar dikulit (Tjay, 2007). Mikonazol juga meningkatkan kerja enzim-enzim tertentu di hati sehingga lebih banyak digunakan secara setempat, untuk pengobatan dermatomikosis, kandidiasis mukokutan dan untuk infeksi kornea yang disebabkan oleh *Candida* sp. atau *Aspergillus* sp. (Siswandono dan Soekardjo, 2008).

3) Derivat Triazol : Flukonazol

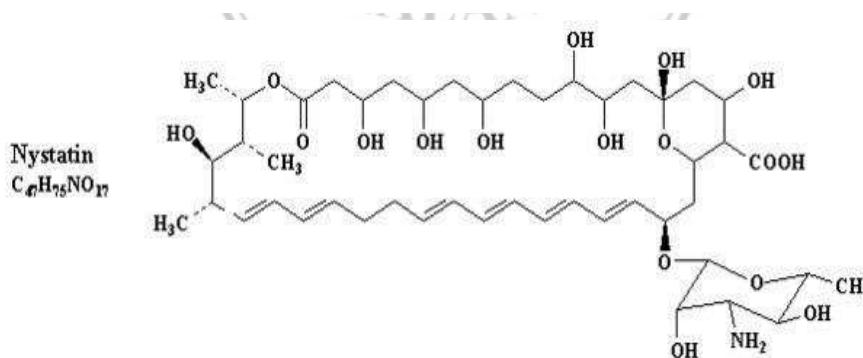
Obat ini merupakan pilihan untuk *Cryptococcus neoformans*, untuk kandidemia dan koksidomikosis. Flukonazol diberikan untuk profilaktik, memberikan hasil yang baik untuk menurunkan infeksi jamur pada penerima transplantasi sumsum tulang, diberikan per-oral atau intravena absorpsinya baik, dan obat ini tidak tergantung pada keasaman lambung seperti halnya ketokonazol. Efek samping mual, muntah, dan kulit kemerahan sering terjadi, dan Anafilaksis (IONI, 2008).

2.2.7 Daya Kerja Antijamur Nistatin

Candida albicans digunakan sebagai obyek pada penelitian ini, sehingga digunakan antijamur sebagai kontrol positif. Antijamur yang digunakan pada penelitian ini adalah Nistatin. Hal ini dikarenakan Nistatin lebih sering digunakan dan merupakan antijamur yang efektif dalam pengobatan kandidiasis. Obat ini

efektif dalam pengobatan topikal maupun oral pada infeksi candidiasis (Coelho, *et al*, 2012). Nistatin banyak digunakan dalam pengujian terhadap strain *Candida albicans* menggunakan metode disk difusi dimana nilai diameter zon ahambat merupakan indikator penentu dalam memutuskan kepekaan suatu antibiotika (Cockerill *et at*, 2012).

Nistatin memiliki aktivitas antijamur, termasuk antibiotika turunan polien disebabkan oleh afinitas obat yang sangat besar terhadap ergosterol, suatu komponen sterol yang sangat penting pada membran sel jamur. Panjang molekul antibiotika polien kurang lebih sam dengan molekul lesitin, suatu komponen membran jamur, sementara sistem ikatan rangkap terkonjugasi kurang lebih sama dengan molekul ergisterol. Bila kedua molekul di atas bertemu pada membran sel jamur, terjadi interaksi hidrofob dan sitem ikatan rangkap akan mengganti interaksi fosfolipid. Kompleks polien-ergostrerol yang terjadi dapat mebuat satu pori, dan melalui pori tersebut konstituen esensial sel jamur bocor keluar sehingga menyebabkan hambatan pertumbuhan jamur. Nistatin sering digunakan untuk pengobatan infeksi *Candida sp.* pada kulit, membran mukosa, saluran cerna dan vagina. Nystatin juga digunakan secara oral atau setempat, untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh *Candida sp* (Siswandono dan Soekardjo, 2008).



Gambar 2.3 Struktur kimia Nystatin (Siswandono dan Soekardjo, 2008)

2.3 Tinjauan Tentang Ekstrak

Ekstrak merupakan sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai. Kemudian semua atau sebagian besar dari pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Farmakope Indonesia edisi IV, 1995).

2.4 Tinjauan Tentang Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Ditjen POM, 2000). Prinsip dasar ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non-polar dalam pelarut non-polar. Serbuk simplisia diekstraksi berturut-turut dengan pelarut yang berbeda polaritasnya (Harbone, 1996). Metode ekstraksi memiliki berbagai macam cara untuk memperoleh ekstrak dari suatu kandungan senyawa kimia tanaman ataupun hewan yang dapat dilakukan dengan beberapa metode ekstraksi, yaitu :

2.4.1 Cara Dingin

1. Maserasi

Maserasi merupakan proses paling tepat untuk simplisia yang sudah halus dan memungkinkan direndam hingga meresap dan melunakkan susunan sel sehingga zat-zatnya akan terlarut. Proses ini dilakukan dalam bejana bermulut lebar, serbuk ditempatkan lalu ditambah pelarut dan ditutup rapat, isinya dikocok berulang-ulang, kemudian disaring. Proses ini dilakukan pada temperatur 15-20° C selama tiga hari. (Ansel, 2005). Pada penelitian ini menggunakan metode maserasi kinetik.

Maserasi kinetik merupakan cara maserasi dengan menggunakan mesin pengaduk yang berputar terus-menerus (kontinu). Waktu proses maserasi dapat dipersingkat 6-24 jam. (Ditjen POM, 2000). Maserasi kinetika didefinisikan sebagai metode ekstraksi dimana sampel direndam menggunakan pelarut dalam

kurun waktu tertentu dengan pengadukan berkecepatan konstan yakni 200 rpm pada suhu ruang (Fauzana, 2010).

2. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (exhaustive extraction) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak(perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Depkes RI, 2000).

2.4.2 Cara Panas

1. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Depkes RI, 2000).

2. Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI, 2000).

3. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C (Depkes RI, 2000).

4. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Depkes RI, 2000).

5. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama ($\geq 30^\circ\text{C}$) dan temperatur sampai titik didih air (Depkes RI, 2000).

2.5 Fraksinasi

Fraksinasi adalah pemisahan antara zat cair dengan zat cair berdasarkan tingkat kepolarannya. Ekstrak dipartisi dengan menggunakan peningkatan polaritas seperti petroleum eter, n-heksana, kloroform, etil asetat, dan etanol. Pemilihan pelarut pada ekstraksi bergantung pada sifat analitnya dimana pelarut dan analit harus memiliki sifat yang sama, contohnya analit yang sifat lipofilitasnya tinggi akan terekstraksi pada pelarut yang relatif nonpolar seperti n-heksana sedangkan analit yang semipolar terlarut pada pelarut yang semipolar (Venn, 2008).

Suatu fraksi dapat tampak jelas, yakni memiliki perbedaan secara fisik, apabila dipisahkan dengan dua tahap ekstraksi cair-cair, atau eluasi kolom kromatografi, misalnya, vakum kromatografi cair, kromatografi kolom, ukuran-eksklusi kromatografi, ekstraksi fase padat. Untuk fraksinasi awal setiap ekstrak kasar, disarankan untuk tidak menghasilkan terlalu banyak fraksi, karena dapat melebarkan noda senyawa target sehingga banyak fraksi yang mengandung senyawa tersebut, sehingga dalam konsentrasi yang rendah dapat mempengaruhi proses deteksi senyawa. Agar dapat menghasilkan fraksi yang lebih baik, maka biasanya menggunakan teknik deteksi langsung, misalnya, ultraviolet (UV), preparatif modern, atau semi preparatif kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) dapat digunakan (Sarker *et al*, 2006).

2.6 Tinjauan tentang Pelarut

Pelarut adalah suatu zat untuk melarutkan zat lain atau suatu obat dalam preparat larutan (Ansel, 2005). Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik atau sesuai untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, dengan demikian senyawa tersebut dapat terpisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan. Untuk mendapatkan ekstrak total, maka cairan pelarut dipilih yang dapat melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung. Pada prinsipnya cairan pelarut harus memenuhi syarat kefarmasian atau dalam perdagangan dikenal dengan kelompok spesifikasi "*pharmaceutical grade*". Sampai saat ini berlaku aturan bahwa pelarut yang diperbolehkan adalah yang mempunyai daya larut tinggi dan tidak berbahaya dan

beracun. Pelarut yang sering digunakan pada proses ekstraksi adalah aseton, etil asetat, etanol. N-heksana, isopropil alkohol, dan metanol umumnya digunakan sebagai pelarut untuk tahap preparasi dan tahap pemurnian (fraksinasi) (Depkes RI, 2000).

Pelarut organik berdasarkan konstanta dielektriknya dapat dibedakan menjadi pelarut polar, semi polar, dan non polar. Semakin tinggi konstanta dielektrikunya maka pelarut semakin bersifat polar (Sudarmadji dkk, 1989).

Tabel 2.1 Konstanta dielektrik pelarut organik (Sudarmadji dkk, 1989)

Pelarut	Konstanta dielektrik
n-Heksana	1,89
Petroleum eter	1,90
n-dekan	1,99
Etil asetat	6,08
Etanol	24,30
Metanol	33,60
Air	80,40

2.6.1 Etil Asetat

Etil asetat ($C_4H_8O_2$), secara umum, dapat digunakan sebagai pelarut, walaupun terkadang juga digunakan sebagai *flavoring agent*. Etil asetat berbentuk cairan, tidak berwarna, cairan yang mudah menguap, dan berbau sedap, serta mudah terbakar. Etil asetat dapat bereaksi keras dengan oksidasi kuat, asam kuat, dan nitrat yang dapat menyebabkan kebakaran atau ledakan. Etil asetat dapat dihasilkan dari destilasi dari campuran etanol dan asam asetat dengan adanya asam sulfat pekat. Hal ini juga disusun dari etilen menggunakan katalis aluminium alkoksida (HPE, 2015).

Kelarutan bahan dalam pelarut tertentu sebagian besar tergantung fungsi dari polaritas pelarut. Pelarut bekerja di bawah aturan umum *like dissolved like*. Aturan tersebut mengacu pada polaritas keseluruhan zat terlarut. Berdasarkan konstanta dielektrik, yang mengacu pada polaritas, pelarut biasanya diklasifikasikan menjadi tiga kategori: polar, pelarut semi polar, dan non – polar. Etil asetat merupakan pelarut yang tergolong pelarut pada kategori pelarut semi polar. Pelarut semi polar terdiri dari molekul dipolar yang kuat namun tidak membentuk ikatan hidrogen. Etil asetat mampu melarutkan zat baik polar dan non polar. Oleh karena itu, dapat berfungsi sebagai media untuk sistem homogenitas

multikomponen yang mengandung pelarut polar dan non - polar (Baki *et al*, 2015).

2.7 Uji kepekaan Antimikroba secara In Vitro

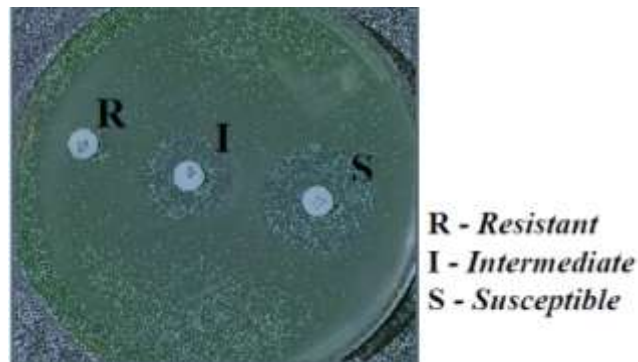
Uji kepekaan antimikroba terhadap obat-obatan dapat dilakukan secara *In vitro* dengan tujuan mengetahui obat yang termasuk antimikroba dan masih dapat digunakan dalam mengatasi infeksi akibat mikroba. Penentuan kepekaan terhadap antimikroba dapat dilakukan dengan beberapa metode diantaranya metode difusi, metode dilusi, dan uji bioautografi (Dzen *et al*, 2003). Aktivitas antimikroba diukur secara *in vitro* bertujuan untuk menentukan potensi agen antimikroba dalam larutan, konsentrasi dalam cairan tubuh atau jaringan, dan ketentuan mikroorganisme tertentu terhadap obat dengan konsentrasi tertentu (Jawets *et al*, 2012).

2.7.1 Metode Difusi Cakram

Prinsip dari metode difusi cakram yaitu obat dijenuhkan ke dalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung obat tertentu di tanam pada media pembenihan agar padat yang telah di campur dengan mikroba yang di uji, kemudian di inkubasikan 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba (Dzen *et al*, 2003).

Untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut dalam menentukan apakah mikroba sensitif ataukah resisten dapat dilakukan dengan dua cara sebagai berikut:

1. Cara Kirby Bauer, yaitu dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) di sekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat oleh NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standard*). Dengan tabel NCCLS ini dapat diketahui kriteria sensitif, intermediet dan resisten. Berdasarkan standar NCCLS, suatu senyawa disebutkan sensitif bila mampu menghasilkan zona hambat lebih dari 18 mm, bersifat intermediet bila zona hambatnya 13-17 mm dan bersifat resisten bila zona hambatnya kurang dari 12 mm.



Gambar 2.4 Kriteria diameter zona hambat oleh (NCCLS, 2005)

Efektivitas antimikroba berhubungan dengan zona inhibisi pertumbuhannya. Makin luas diameternya, makin potensi sample antimikroba tersebut.

2. Cara Joan-Stokes, yaitu dengan membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tertentu dengan isolat bakteri yang diuji. Pada uji Joan-Stokes, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar (Dzen *et al*, 2003).

2.7.2 Metode Dilusi

Cara ini digunakan untuk menentukan kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM) dari obat antimikroba. Prinsip dari metode dilusi tabung yaitu menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair, dan sejumlah tertentu sel mikroba yang akan diuji. Kemudian masing-masing dari tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya, seri tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung (Jawets *et al*, 2010).

Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari obat. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KHM dari obat terhadap bakteri uji (Dzen *et al*, 2003).

Prinsip metode ini adalah pengenceran antibiotik sehingga diperoleh beberapa konsentrasi obat yang ditambah suspensi kuman dalam media. Sedangkan pada dilusi padat, tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar lalu ditanami kuman dan diinkubasi. Pada metode ini yang diamati adalah ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri atau kuman atau jika mungkin, tingkat kesuburan dari pertumbuhan kuman, dengan cara menghitung jumlah koloni, maka dapat ditentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM), (Jawetz *et al.*, 2012).

2.7.3 Uji Bioautografi

Uji bioautografi merupakan metode spesifik untuk mendeteksi bercak pada kromatografi hasil KLT (Kromatografi Lapis Tipis) yang memiliki aktivitas antibakteri, antifungi, dan antivirus, sehingga mendekatkan metode separasi dengan uji biologis. Bioautografi adalah metode yang efektif dan efisien untuk menganalisis fitokimia ekstrak tanaman dan mengidentifikasi bioaktivitas ekstrak tanaman (Pratiwi, 2008). Selain itu bioautografi merupakan sebuah metode yang sederhana, cepat dan murah untuk skrining kimia dan biologi ekstrak tumbuhan yang kompleks, isolasi senyawa yang dipandu dengan pengujian aktivitas. Penerapan utama metode bioautografi adalah skrining cepat sejumlah besar sampel untuk bioaktivitas, yaitu, antibakteri, antijamur, antioksidan, penghambatan enzim, dan lain-lain dan dalam pengarahan target untuk isolasi senyawa aktif (Dewanjee *et al*, 2014; Kusumaningtyas *et al*, 2008).

Kromatografi kertas (PC) dan kromatografi lapis tipis (TLC) merupakan alat untuk skrining agen antimikroba melalui bioautografi. Ada tiga metode bioautografi yakni bioautografi kontak atau difusi agar, deteksi bioautografi TLC langsung, bioautografi imersi atau agar overlay (Dewanjee *et al*, 2014).

2.7.3.1 Bioautografi Kontak atau Difusi Agar

Dalam bioautografi kontak, agen antimikroba berdifusi dari plat TLC yang dikembangkan ke plate agar yang diinokulasi. Kromatogram ditempatkan menghadap ke bawah ke lapisan agar-agar yang diinokulasi untuk jangka waktu tertentu untuk mengaktifkan difusi. Kemudian kromatogram dikeluarkan dan lapisan agar diinkubasi. Zona inhibisi pada permukaan agar (ditandai dengan area yang jernih), sesuai dengan tempat di plat kromatografi, adalah indikasi dari zat antimikroba. Waktu inkubasi untuk pertumbuhan berkisar antara 16 dan 24 jam

tetapi dapat dikurangi menjadi 5-6 jam dengan menyemprotkan dengan 2,6-Dichlorophenol-indophenol atau 2,3,5-tetrazoliumchloride (Dewanjee *et al*, 2014).

2.7.3.2 Bioautografi Langsung

Dalam bioautografi langsung, plat TLC yang dikembangkan disemprot atau dimasukkan ke dalam suspensi bakteri atau fungi. Suspensi untuk tes bakteri atau fungi digunakan untuk tujuan penyemprotan atau perendaman. Digunakan suspensi 10⁶ CFU/ml yang dapat bekerja pada bakteri dan fungi. Bioautogram diinkubasi pada suhu 25oC selama 48 jam dalam keadaan lembab. Untuk visualisasi pertumbuhan mikroba, digunakan garam tetrazolium. Garam ini diubah oleh aktivitas enzim dehidrogenase dari mikroorganisme yang hidup menjadi senyawa formasan yang berwarna. Garam ini disemprot pada bioautogram dan kembali diinkubasi pada suhu 25oC selama 24 jam atau pada 37oC selama 3-4 jam. Zona putih bersih (tak berwarna) terhadap latar belakang yang berwarna pada plat TLC mengindikasikan aktivitas antibakteri dari sampel. Metode bioautografi langsung telah menggambarkan produksi spora fungi seperti *Aspergillus*, *Penicillium* dan *Cladosporium* dan juga bakteri, *Bacillus subtilis*, *S. Aureus* dan *Escherichia coli* digunakan untuk mengidentifikasi senyawa aktif. p-Iodonitrotetrazolium violet merupakan reagen yang cocok untuk deteksi (Dewanjee *et al*, 2014).

2.7.3.3 Bioautografi Imersi atau Agar Overlay

Agar overlay merupakan kombinasi dari bioautografi kontak dan bioautografi langsung. Pada metode ini, kromatogram ditutupi oleh medium agar yang cair. Setelah mengeras, inkubasi dan pewarnaan (biasanya dengan tetrazolium kering), berkas inhibisi atau pertumbuhan dapat divisualisasikan. Untuk mikroorganisme yang tidak berwarna, zona hambatan pertumbuhan mikroba divisualisasikan dengan bantuan aktivitas dehidrogenasi reagen deteksi (garam tetrazolium). Metabolisme mikroorganisme aktif akan mengubah garam tetrazolium (MTT) menjadi senyawa formasan berwarna yang sesuai (Dewanjee *et al*, 2014). Pengujian agar overlay telah digunakan untuk jamur seperti *Candida albicans* dan juga dapat diaplikasikan untuk bakteri seperti *B. subtilis*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *S. aureus* (Dewanjee *et al*, 2014).

2.8 Tinjauan Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis adalah metode pemisahan fisikokimia. Lapisan yang memisahkan, yang terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah, berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita (awal). Setelah pelat atau lapisan ditaruh di dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler. Pada kromatografi lapis tipis dua dimensi, lempeng yang telah dieluasi diputar 90^0 dan dieluasi lagi, umumnya menggunakan bejana lain yang berisi pelarut lain (Stahl, 1985).

Fase diam merupakan lapisan penjerap yang khusus digunakan untuk KLT. Panjang lapisan tersebut 200 mm dengan lebar 200 mm atau 100 mm. Untuk analisis, tebalnya 0,1 – 0,3 mm, atau biasanya digunakan ukuran 0,2 mm. Sebelum digunakan, lapisan disimpan dalam lingkungan yang tidak lembab dan bebas dari uap laboratorium. Fase diam yang umum digunakan adalah silika gel, alumunium oksida, kieselgur, selulosa, dan turunannya, poliamida, dan lain-lain. Silika gel merupakan fase diam yang sering digunakan. Silika gel dapat menghasilkan perbedaan dalam efek pemisahan yang tergantung pada cara pembuatannya (Stahl, 1985).

Fase gerak merupakan pelarut tunggal atau pelarut campuran yang bergerak melewati fase diam (menyerap ke dalam fase diam) sebagai hasil dari gaya kapiler. Fase gerak ini dikenal dengan istilah “eluen”. Kecocokan pelarut untuk kromatografi diklasifikasikan berdasarkan kekuatan eluasi (kepolaran). Ukuran utama dari tingkat kepolaran dilihat dari konstanta dielektrik (DC). Parameter lain seperti tegangan permukaan, viskositas, dan tekanan uap juga digunakan sebagai karakteristik pelarut. Saat pelarut telah mencapai bagian atas plat maka plat diangkat dari chamber, dikeringkan, dan campuran komponen senyawa terpisah dapat divisualisasikan (Narwal, 2009).